

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-324505

(43)Date of publication of application : 22.11.2001

(51)Int.Cl.

G01N 33/53
G01N 33/566
// C12N 15/09

(21)Application number : 2000-145099

(71)Applicant : HITACHI SOFTWARE ENG CO LTD

(22)Date of filing : 17.05.2000

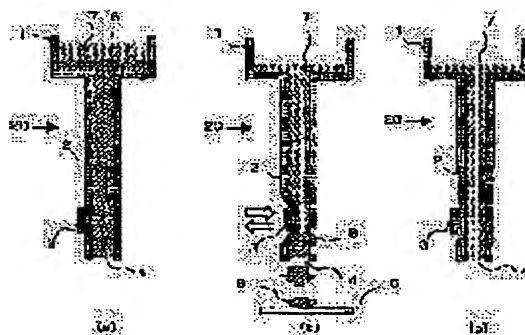
(72)Inventor : ITO TOSHIAKI
YAMAMOTO KENJI
YOSHII JUNJI
TSUJIMOTO ATSUMI
NASU NAGANORI

(54) BIO-CHIP PREPARATION SOLUTION AND BIO-CHIP PREPARATION METHOD

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To use a DNA solution without wasting it when a bio-chip is prepared by an ink jet method.

SOLUTION: A bio-chip preparation solution is composed of a solution prepared by combining the DNA solution 6 spotted on a plate 5 and a buffer solution 7 remaining in a device when preparation is completed, and the solution remaining when preparation is completed is the buffer solution 7 at low cost. Such buffer solution 7 that has different specific gravity from that of the DNA solution 6 is used to prevent its mixture with the DNA solution 6.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

04.10.2002

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision]

of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2001-324505

(P2001-324505A)

(43)公開日 平成13年11月22日(2001.11.22)

(51)IntCl. ⁷	識別記号	F I	テマコード(参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	M 4 B 0 2 4
33/566		33/566	
// C 1 2 N 15/09		C 1 2 N 15/00	A

審査請求 未請求 請求項の数4 O L (全 6 頁)

(21)出願番号 特願2000-145099(P2000-145099)

(22)出願日 平成12年 5月17日(2000.5.17)

(71)出願人 000233055

日立ソフトウェアエンジニアリング株式会
社

神奈川県横浜市中区尾上町 6 丁目81番地

(72)発明者 伊藤 敏明

神奈川県横浜市中区尾上町 6 丁目81番地
日立ソフトウェアエンジニアリング株式会
社内

(74)代理人 100091096

弁理士 平木 祐輔 (外1名)

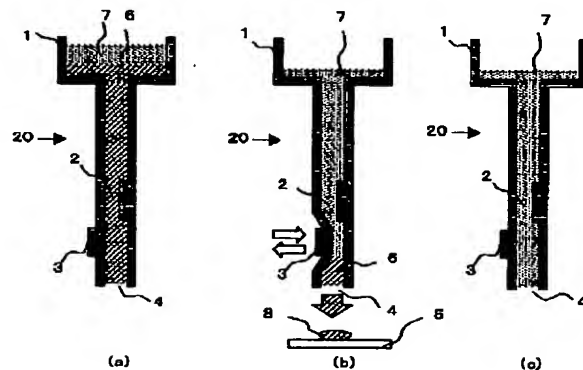
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 バイオチップ作成溶液及びバイオチップ作成方法

(57)【要約】

【課題】 インクジェット方式でバイオチップを作成する際、DNA溶液を無駄なく使用する。

【解決手段】 バイオチップ作成溶液を、プレート5にスポットするDNA溶液6と終了時に装置内に残るバッファ溶液7とを組み合わせた溶液で構成し、終了時に残る溶液を低コストのバッファ溶液7とする。バッファ溶液7はDNA溶液6と混ざらないようにするため、DNA溶液6と比重の異なるものを使用する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 生体高分子の入った第 1 の溶液と、前記第 1 の溶液と混合しない前記第 1 の溶液と比重の異なる第 2 の溶液とを含むことを特徴とするバイオチップ作成溶液。

【請求項 2】 生体高分子の入った第 1 の溶液と、前記第 1 の溶液と混合しない前記第 1 の溶液より比重の小さな第 2 の溶液とを含むことを特徴とするバイオチップ作成溶液。

【請求項 3】 生体高分子の入った第 1 の溶液と、前記第 1 の溶液と混合しない前記第 1 の溶液より比重の小さな第 2 の溶液と、前記第 1 の溶液と混合しない前記第 1 の溶液より比重の大きな第 3 の溶液とを含むことを特徴とするバイオチップ作成溶液。

【請求項 4】 インクジェット装置に生体高分子の入ったバイオチップ作成溶液を注入し、前記インクジェット装置からバイオチップ作成溶液を基板に噴射して基板上に生体高分子のスポットを固定化するバイオチップ作成方法において、前記バイオチップ作成溶液として請求項 1～3 のいずれか 1 項記載のバイオチップ作成溶液を用いることを特徴とするバイオチップ作成方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、DNA や蛋白質などの生体高分子を基板上に固定化したバイオチップの作成方法に関し、特にインクジェット方式でバイオチップを作成する方法及びそのときに用いるバイオチップ作成溶液に関する。

【0002】

【従来の技術】 バイオチップは、DNA、蛋白質などの生体高分子をガラスプレートなどの基板上に固定化したものである。インクジェット方式でバイオチップを作成する方法は、インクジェットプリンタに用いられるインクジェット装置にインクの代わりにバイオチップ作成用の生体高分子溶液（バイオチップ作成溶液）を入れ、バイオチップ作成溶液を基板上に噴射し、基板に生体高分子をスポットするものである。

【0003】 バイオチップ作成溶液としては、図 7 に示すように、緩衝液 12 としての Tris-HCl、キレート剤 13 としての EDTA、及び DNA 14 を混合して構成された DNA 溶液 6 が使用される。

【0004】 図 8 は、圧電素子を用いたインクジェット装置によりバイオチップ作成手順を説明する断面図である。図 8 を用いて、インクジェット装置内における DNA 溶液の状態について説明する。図 8 (a) は、インクジェット装置 20 のタンク 1 にバイオチップ作成溶液として DNA 溶液 6 を入れた初期状態を示す図である。DNA 溶液 6 は、インクジェット装置 20 のタンク 1 及び供給路 2 に入っている。図 8 (b) は DNA 溶液 6 をプ

レート 5 に噴射している状態を表している。圧電素子 3 に電圧を加えて供給路 2 を圧縮し、圧縮した圧力で DNA 溶液 6 を噴射口 4 から噴射してプレート 5 に DNA スポット 8 を打ち、DNA を植付けている。その後、圧電素子 3 に印加する電圧を弱くして供給路 2 を圧縮状態から元の状態に戻す。この動作を次のプレートへと繰り返し行って複数個のバイオチップを作成する。

【0005】 図 8 (c) は、溶液不足による DNA 溶液噴射の終了状態を示す図である。このとき、インクジェット装置 20 のタンク 1 と供給路 2 には DNA 溶液 6 が残っている。DNA 溶液 6 が残っていても噴射することができないのは、インクジェット方式ではタンク 1 側に十分な量の溶液が入っていないと、供給路 2 を圧縮しても噴射口 4 側に噴射に必要な圧力が発生しないためである。その結果、タンク 1 と供給路 2 に DNA 溶液 6 が残った状態で噴射が終了することになる。

【0006】

【本発明が解決しようとする課題】 インクジェット装置を用いるバイオチップの作成では、上述のように、タンクに注入したバイオチップ作成溶液の全てをバイオチップ作成のために使いきることができない。つまり、インクジェット装置内にバイオチップ作成溶液が残った状態で終了するため、結果としてバイオチップ作成溶液を捨てることになる。よって、バイオチップの作成に当たっては基板に植付ける量と装置内に残る量を加算した合計量のバイオチップ作成溶液が必要であり、植付けに使用する以上の DNA 溶液が必要となっている。例えば、DNA スポット 0.2 n l (ナノリットル) のバイオチップを 10000 個作成するには、10000 個分の 2 μ l (マイクロリットル) とインクジェット装置内に残って捨てられる 50 μ l の合わせて 52 μ l の DNA 溶液が必要とされる。このように、従来の方法ではバイオチップ作成のために用意した高価な DNA 溶液の大部分が利用されずに捨てられることになり、バイオチップのコスト上昇要因となっている。これは、圧電素子を用いるインクジェット方式に限らず、ヒーター加熱で気泡を発生させて溶液を噴射するタイプのインクジェット方式、あるいは静電プロッタ方式など、DNA 溶液を飛翔させて基板に付着させるすべてのタイプのバイオチップ作成装置に存在する問題である。

【0007】 本発明は、このような従来技術の問題点に鑑み、高価な DNA 等の生体高分子が入っているバイオチップ作成溶液を無駄なく利用することのできるインクジェット方式あるいは静電プロッタ方式によるバイオチップ作成方法を提供することを目的とする。また、本発明は、インクジェット方式あるいは静電プロッタ方式によってバイオチップを作成する際に使用して好適なバイオチップ作成溶液を提供することを目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】 本発明では、終了時にイ

ンクジェット方式や静電プロッタ方式のバイオチップ作成装置や内に残留する溶液を低コストのバッファ溶液とすることで前記目的を達成する。そのために、バイオチップ作成溶液を基板にスポットされるDNA等の生体高分子溶液と終了時に装置内に残るバッファ溶液とを組み合わせる。バッファ溶液には、生体高分子溶液と比重が異なり生体高分子溶液と混ざらない溶液を用いる。

【0009】生体高分子溶液とバッファ溶液とを組み合わせたものをバイオチップ作成溶液とすることで、バイオチップ作成装置に注入する生体高分子溶液の量を必要最少量に抑えることができる。例えば、従来インクジェット方式でバイオチップを10000個生産するのに必要なDNA溶液の量は基板にスポットされる $2\mu\text{l}$ と装置内に残留する $50\mu\text{l}$ の合わせて $52\mu\text{l}$ であったが、本発明によると基板にスポットされる $2\mu\text{l}$ だけでよく（装置内に残留する $50\mu\text{l}$ はバッファ溶液で代替）、用意すべきDNA溶液の量を大幅に削減することが可能になる。従って高価なDNA溶液を捨てなくてすむため、大幅なコスト削減を達成できる。

【0010】すなわち、本発明によるバイオチップ作成溶液は、生体高分子の入った第1の溶液と、第1の溶液と混合しない第1の溶液と比重の異なる第2の溶液とを含むことを特徴とする。

【0011】本発明によるバイオチップ作成溶液は、生体高分子の入った第1の溶液と、第1の溶液と混合しない第1の溶液より比重の小さな第2の溶液とを含むことを特徴とする。本発明によるバイオチップ作成溶液は、また、生体高分子の入った第1の溶液と、第1の溶液と混合しない第1の溶液より比重の小さな第2の溶液と、第1の溶液と混合しない第1の溶液より比重の大きな第3の溶液とを含むことを特徴とする。

【0012】本発明によるバイオチップ作成方法は、インクジェット装置に生体高分子の入ったバイオチップ作成溶液を注入し、インクジェット装置からバイオチップ作成溶液を基板に噴射して基板上に生体高分子のスポットを固定化するバイオチップ作成方法において、バイオチップ作成溶液として前述した生体高分子の入った第1の溶液と、第1の溶液と混合しない第1の溶液と比重の異なる第2の溶液とを含むバイオチップ作成溶液を用いることを特徴とする。

【0013】生体高分子の入った溶液（例えばDNA溶液）と混合しない比重の異なるバッファ溶液は、溶液噴射側にDNA溶液が位置し、その後側にバッファ溶液が位置するように溶液の比重が選択される。例えば、上方から下方に向けて溶液を噴射する場合、DNA溶液より比重の軽いバッファ溶液を用い、DNA溶液の上にバッファ溶液が位置するようにする。逆に、下方から上方に向けて溶液を噴射する場合には、バッファ溶液の比重をDNA溶液より重くし、DNA溶液の下にバッファ溶液

が位置するようにする。

【0014】

【発明の実施の形態】以下、図面を参照して本発明の実施の形態を説明する。バイオチップはガラスなどのプレート（基板）上にDNAなどの生体高分子を植付けたものであり、インクジェット方式のバイオチップの作成システムは生体高分子をプレート上に植付けるインクジェット装置と、生体高分子が入っているバイオチップ作成溶液を使用する。以下では、説明を簡単にするために生体高分子としてDNAを用いた場合について説明する。

【0015】図1は、本発明によるバイオチップ作成方法を実行するための装置構成図である。インクジェット装置20にインクの代わりにバイオチップ作成溶液11を入れて噴射し、プレート5の表面にDNAスポット8を形成し、バイオチップ9を作成する。この原理は従来法と同様である。インクジェット装置20のタンク1にバイオチップ作成溶液11を注入し、供給路2を通して噴射口4までバイオチップ作成溶液11を満たす。このとき、バイオチップ作成溶液11は、インクジェット装置20のタンク1及び供給路2に入っている。次に、供給路2に設けられた電圧素子3で供給路2に圧力をかけて圧縮し、噴射口4からバイオチップ作成溶液を噴射させ、プレート5にDNAスポット8を打つ。こうして、バイオチップ9が作成される。

【0016】〔実施の形態1〕図2に、本発明によるバイオチップ作成溶液の構成例を示す。このバイオチップ作成溶液は、DNA溶液6とバッファ溶液7とから構成されている。DNA溶液6は、緩衝液としてのTris-HClと、キレート剤としてのEDTAと、プレートにスポットすべきDNAとで構成されている。バッファ溶液7としては、DNA溶液6（比重約1.0）より比重の軽い流動パラフィン（比重0.83～0.86）またはミネラルオイル（比重0.84～0.88）を用い、DNA溶液6と混ざらないようにした。

【0017】図3は、図2のバイオチップ作成溶液を用いたインクジェット方式によるバイオチップ作成方法を説明する図である。図3（a）は、インクジェット装置20のタンク1に図2のバイオチップ作成溶液を注入した初期の状態を表す図である。比重の異なる相互に混じり合わない2種類の溶液6、7で構成されたバイオチップ作成溶液は、DNA溶液6とバッファ溶液7とが分離した状態となっている。このとき、バイオチップ作成溶液を別の容器で調製してタンク1へ一括注入するより、タンク1への注入は比重の重い順に、DNA溶液6、バッファ溶液7と順に注入する方が望ましい。これは、タンク1へ注入するとき、各溶液ができるだけ混ざらないようにするためである。

【0018】図3（b）は、バイオチップを作成している状態を示す模式図である。プレート5をインクジェット装置20の噴射口4の下に位置づけ、DNA溶液6を

噴射してプレート 5 に DNA を植付ける。DNA 溶液 6 はバッファ溶液 7 より比重が重いので噴射口 4 側に位置し、バッファ溶液 7 はタンク 1 側に分離して位置している。そのため、DNA 溶液 6 を先に使用することができる。

【0019】DNA 溶液 6 の噴射に当たっては、圧電素子 3 に電圧を印加して供給路 2 を圧縮する。供給路 2 には圧電素子 3 の位置を中心にタンク 1 側と噴射口 4 側に圧力が発生するが、タンク 1 側の圧力を噴射口 4 側の圧力より大きく保っておけば、圧力の弱い方に力が移動するため、噴射口 4 から DNA 溶液 6 を噴射することができる。その後、圧電素子 3 への印加電圧を低下させ、供給路 2 の圧縮を元の状態にする。すると圧縮解除による吸引力が発生し、圧力の大きい方のタンク 1 から供給路 2 に DNA 溶液 6 を供給することができる。バイオチップを複数個作成するときは、DNA 溶液 6 を打ち付けたあと、プレート 5 を送り出し、次のプレート 5 を噴射口 4 の下に移動させる。これを繰り返して行えば複数のバイオチップを作成することができる。

【0020】図 3 (c) は、DNA 溶液 6 を全て使い終わった状態を示している。このとき、インクジェット装置 20 の供給路 2 とタンク 1 にはバッファ溶液 7 が残る。これにより、DNA 溶液 6 を無駄にすることなく全てプレートに植付けることできる。

【0021】〔実施の形態 2〕図 4 に、本発明によるバイオチップ作成溶液の他の構成例を示す。このバイオチップ作成溶液は、インクジェット装置の初期調整で、噴射動作が安定するまで試し噴射を必要とする場合に有効な溶液である。

【0022】バイオチップ作成溶液は、DNA 溶液 6 とバッファ溶液 7 と初期調整液 10 とで構成されている。DNA 溶液 6 は、緩衝液としての Tris-HCl と、キレート剤としての EDTA と、プレートにスポットすべき DNA とで構成されている。バッファ溶液 7 としては、DNA 溶液 6 (約 1.0) より比重の軽い流動パラフィン (比重 0.83~0.86) またはミネラルオイル (比重 0.84~0.88) を使用する。初期調整液 10 としては、DNA 溶液 6 より比重の重いグリセロール (比重約 1.26) またはクロロホルム (約 1.48) を使用する。

【0023】図 5 は、図 4 に示したバイオチップ作成溶液を用いたインクジェット方式のバイオチップ作成方法を説明する図である。図 5 (a) は、インクジェット装置 20 のタンク 1 に図 4 に示したバイオチップ作成溶液を注入した初期の状態を示す図である。比重の異なる相互に混合しない 3 種類の溶液 10, 6, 7 で構成されたバイオチップ作成溶液は互いに分離した状態となっている。各溶液は比重の重い順に供給路 2 を満たし、一番比重の軽いバッファ溶液 7 がバイオチップ作成溶液の上部に浮いた状態となっている。すなわち、供給路 2 の噴射

口 4 の近くは初期調整液 10 が満たし、その上に DNA 溶液 6 が位置し、さらにその上にバッファ溶液 7 が位置する。インクジェット装置にバイオチップ作成溶液を注入するときは、別の容器で調製したバイオチップ作成溶液をタンク 1 へ一括注入するより、初期調整液 10、DNA 溶液 6、バッファ溶液 7 と比重の重い順にタンク 1 に順番に注入する方が望ましい。これは、タンク 1 へ注入するとき各溶液ができるだけ混ざらないようにするためである。

【0024】図 5 (b) は、インクジェット装置の噴射動作が安定するまでの初期調整状態を示す図である。噴射量が安定になるまで溶液の噴射動作をくり返し行う。このとき、噴射口 4 から噴射される溶液は初期調整液 10 であり、DNA 溶液 6 を使用しなくてすむ。

【0025】図 5 (c) は、初期調整の後、バイオチップを作成している状態を示す模式図である。バイオチップ作成のための溶液噴射は、初期調整液 10 を完全に噴射し終わり、DNA 溶液 6 が噴射口 4 から噴射するようになった後で、プレート 5 をインクジェット装置 20 の噴射口 4 の下に位置づけ、DNA 溶液 6 を噴射することで行う。DNA 溶液 6 はバッファ溶液 7 より比重が重いので噴射口 4 側に位置し、バッファ溶液 7 はタンク 1 側に分離して位置している。そのため、DNA 溶液 6 をバッファ溶液 7 より先に使用することができる。

【0026】図 5 (d) は、DNA 溶液 6 を全て使い終わった状態を示している。このとき、インクジェット装置 20 の供給路 2 とタンク 1 にはバッファ溶液 7 が残る。これにより、DNA 溶液 6 を無駄にインクジェット装置内に残すことなく全てプレート 5 に植付けることできる。

【0027】〔実施の形態 3〕図 6 は、図 2 のバイオチップ作成溶液を用いた静電プロッタ方式によるバイオチップ作成方法を説明する図である。静電プロッタ方式のバイオチップ作成装置は、マイナス極側の放電ピン 22 を装着したタンク 21 と、プラス極プレート 23 とで構成される。DNA 溶液 6 とバッファ溶液 7 からなるバイオチップ作成溶液をタンク 21 に入れ、プラス極プレート 23 の上にプレート 5 を置く。比重の重い DNA 溶液 6 はタンク 1 内で下方のノズル 24 側に位置し、比重の軽いバッファ溶液 7 は DNA 溶液 6 の上部に分離して位置する。

【0028】プレート 5 に DNA 溶液を付着させる時は、マイナス極側の放電ピン 22 とプラス極プレート 23 の間に直流の電圧を印加する。すると、マイナス極側の放電ピン 22 からプラス極プレート 23 に向かって静電気が生じ、静電力によって DNA 溶液がノズル 24 からプラス極プレート 23 の方向に飛ぶ。こうすることで、プレート 5 に DNA 溶液を付着させることができる。この静電プロッタ方式によるバイオチップ作成方法においても、従来法に比較して DNA 溶液 6 の有効利用

が可能になる。

【0029】以上説明したように、本発明によるバイオチップ作成溶液を用いると、高価なDNAが入っているDNA溶液を捨てることなく、全てバイオチップに植付けることができる。ここでは、生体高分子としてDNAを用いた場合のバイオチップ作成溶液について説明した。しかし、本発明は蛋白質チップの作成など、DNA以外の生体高分子を固定化したバイオチップの作成に適用できることはもちろんのこと、インクジェット方式や静電プロッタ方式に限らず生体高分子を溶液にし媒体へ

【0030】

【発明の効果】本発明によると、インクジェット方式や静電プロッタ方式など、DNAを植付ける方式において、高価なDNAが入っているDNA溶液を無駄にすることなく有効に使用してバイオチップを作成することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明によるバイオチップ作成方法を実行するための装置構成図。

【図2】本発明によるバイオチップ作成溶液の構成例を示す図。

【図3】図2のバイオチップ作成溶液を用いたインクジェット方式によるバイオチップ作成方法の説明図。

【図4】本発明によるバイオチップ作成溶液の他の構成例を示す図。

【図5】図4に示したバイオチップ作成溶液を用いたインクジェット方式によるバイオチップ作成方法の説明図。

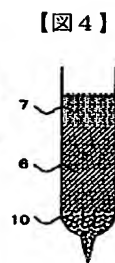
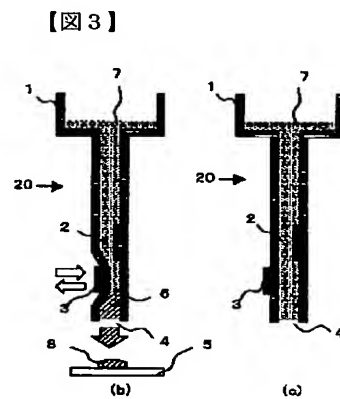
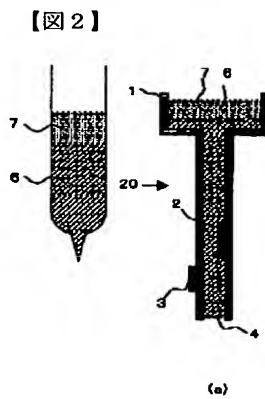
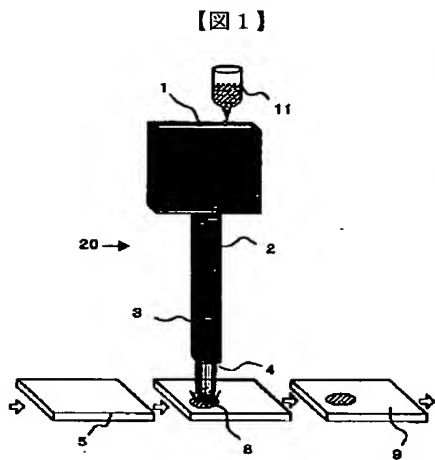
【図6】図2のバイオチップ作成溶液を用いた静電プロッタ方式によるバイオチップ作成方法の説明図。

【図7】バイオチップ作成溶液の説明図。

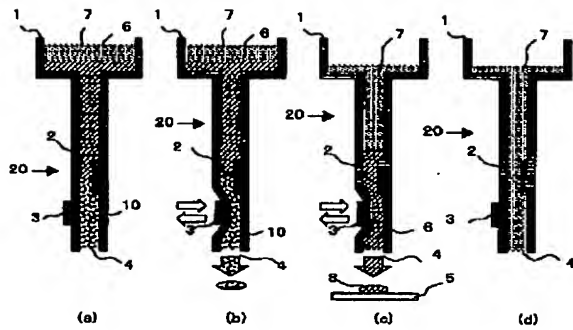
【図8】従来のバイオチップ作成手順を説明する図。

【符号の説明】

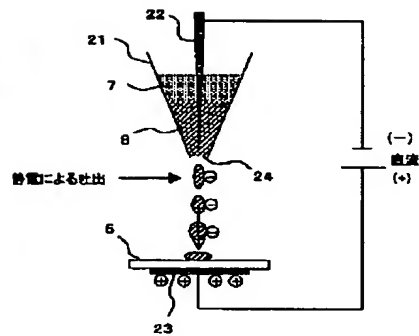
- 1：タンク
- 2：供給路
- 3：電圧素子
- 4：噴射口（ノズル）
- 5：プレート
- 6：DNA溶液
- 7：パuffa溶液
- 8：DNAスポット
- 9：バイオチップ
- 10：初期調整液
- 11：バイオチップ作成溶液
- 12：緩衝液
- 13：キレート剤
- 14：DNA
- 20：インクジェット装置
- 21：タンク
- 22：マイナス極側放電ピン
- 23：プラス極プレート
- 24：ノズル



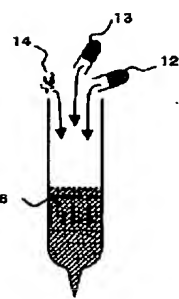
【図 5】



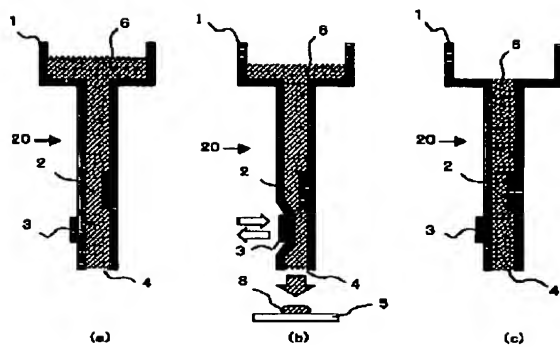
【図 6】



【図 7】



【図 8】



フロントページの続き

(72)発明者 山本 顕次
神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地
日立ソフトウェアエンジニアリング株式会
社内

(72)発明者 吉井 淳治
神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地
日立ソフトウェアエンジニアリング株式会
社内

(72)発明者 辻本 敦美
神奈川県横浜市保土ヶ谷区神戸町134 株
式会社ディーエヌエーチップ研究所内

(72)発明者 奈須 永典
神奈川県横浜市泉区上飯田町313番3

Fターム(参考) 4B024 AA20 CA01 CA11 HA19